本土化氣霧耕量產菌根接種源

王均琍

國立屏東技術學院農園生產技術系

摘 要

本研究以本省業者常用之氣霧耕設施，第一期以紅豆爲寄主作物，於盆缽內播種之同時接種 *Glomus mosseae* (Gm)，感染後以三種不同營養液作氣霧耕栽培，結果顯示於0.5 強度 Hoagland's 含1/4 磷 (H 1/4P) 之營養液菌根孢子之產量優於 0.5 強度含全磷 (1H 1P) 及台肥液 (200X) 者。不同菌種產孢量亦有所不同，以 *Glomus etunicatum*（26 個孢子 / 1cm 根段）與 *G. fasciculatum* (24 個) 高於 *G. mosseae*(12 個)。

第二期以蕃茄、玉米、百喜草爲寄主作物，亦於盆缽內播種之同時接種 *Glomus mosseae*, *G. etunicatum*, *G. fasciculatum* 與*G. clarum* 四種菌之混合孢子土，感染後以氣霧耕栽培，結果顯示玉米植株生長至後期，植株高大不易固定，故後續試驗捨之。而百喜草每公分根段產孢量高於蕃茄，惟蕃茄菌根之生物量大於百喜草者，且蕃茄果實具經濟價値，値得繼續探討。

第三期仍以蕃茄、百喜草爲寄主作物，以海棉塊育苗移作氣霧耕，之後以海棉塊內置菌根片段包覆蕃茄與百喜草根之周圍作菌根菌感染，惟海棉塊附近根系逐漸腐爛，乃將含菌根片段之細網 (接菌網) 覆於氣霧耕植株根之周圍，進行菌根菌接種，則生育期中寄主根系之發育完全不受影響，且菌根菌感染強度，囊孢與孢子產量均有增進。接菌八週後百喜草平均每公分根段孢子數30，蕃茄7.3。

就量產策略而言，本省蕃茄等經濟作物之栽培如能引用本研究所發展之方法，育苗期不予接菌，移植後，利用接菌網多次加強接菌，可大幅增加產孢量，業者之操作技術層面亦較簡便，適合大規模推廣應用。

關鍵字：氣霧耕，內生菌根菌，量產

前 言

囊叢枝菌根菌(Vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi，VAMF) 具有促進植物生長及對水分、礦物營養尤其磷素之吸收能力，更有幫助植物抵抗乾旱環境、土壤病害，中和重金屬毒害，延長根系壽命和提高移植存活率等效益。如以微生物肥料型式推廣應用於田間，將有助於農業生產。由於 VAMF 係絕對共生菌，無法純粹培養，傳統方法生產接種源乃以盆缽種植寄主植物後接種 VAMF ，取其根域土壤及菌根碎段爲孢子土作爲接種源，其於商品化實際應用時，卻有接種源難以大量生產，孢子土體積與重量均較龐大，且易遭病原菌污染等困擾，本研究乃以營養液氣霧栽培菌根植物，以生產潔淨無污染、高品質之接種源。

一、 國外之氣霧耕研究：

有關氣霧耕之研究起源於1976年，Zobel等人將植物的根系裸露於以轉動葉輪打起之營養液霧氣中生長，成功地將豌豆、大豆、蠶豆、落花生、木麻黃、楊梅樹及向日葵等植物氣霧耕培

養。植株根系生長於高度通氣的營養液氣霧環境中，根系與根毛之生長發育良好。之後，Hung(1988)將百喜草與甘藷之種子播種於淺盆中同時接種菌根菌，六至八週後菌根化幼苗移置Zobel式氣霧耕培養，十四至十五週後檢視菌根每公分根段有4至51粒孢子。然鑑於植株幼苗於接種菌根菌之期間，根系周遭土壤中微生物或病原菌可能會污染菌根，Hung(1991)遂以水凝膠(hydrogel)作爲菌根菌孢子之粘著劑進行接種工作，取發芽三週之百喜草，修剪其根系至6公分長，將其浸入含孢子之凝膠中以接種菌根菌，隨即移作氣霧耕培養，十六週後有41%至68%之根系被菌根菌感染。

二、 本省之氣霧耕設施：

本省地處亞熱帶，尤其是夏季氣溫偏高，如何於設施內養液栽培時，降低營養液溫度，是必需考慮之課題，81年間於埔里觀察氣霧耕蕃茄業者係將養液桶埋設地下，可防止日光照射及溫度變化，再以幫浦抽取營養液經pv管打入氣霧耕槽中，pv管裝置極細粒子噴霧頭以造成氣霧。本實驗室亦採用上述循環式氣霧耕方法，以角鋼架組成90×75×42 cm之氣霧(aeroponic culture, Aero)槽，內舖3公分厚之保利龍板及黑色塑膠布。養液桶爲黑色塑膠桶，其直徑60公分、高98公分，內盛營養液180公升，每一養液桶連接二個氣霧槽，以自動定時裝置每隔15分鐘由養液桶抽取營養液噴霧15分鐘於植株根系。每三天調整營養液之PH使至6.0，二星期換養液一次。

三、 第一期氣霧耕：

以紅豆爲寄主作物，比較不同營養液對菌根菌產孢之影響，以及不同種菌根菌及接種期對紅豆菌根孢子產量之影響。首先三個養液桶分別盛裝0.5強度Hoagland's含全磷營養液(1/2(H1P))、0.5強度Hoagland's含1/4磷營養液(1/2(H1/4P))及台肥水耕營養液(稀釋200倍)，每一養液桶連接二個氣霧槽，每一氣霧槽種植菌根化紅豆12株，株距12 cm。菌根化紅豆之合成乃取直徑10公分黑色塑膠盆，內置0.9 Kg滅菌砂土，土面中間挖一小坑放置經滅菌並摺成漏斗形之濾紙，濾紙上滴入定量經表面消毒過之*Glomus mosseae*或*G. etunicatum*、*G. fasciculatum*孢子懸浮液，約含100粒孢子，覆土2 cm，播下表面消毒過之紅豆種子，再覆土，待種子發芽後，盆缽置於溫室中培養，每盆每二天施用1/4P Hoagland's完全營養液50ml，數週後，洗淨根系移置氣霧耕栽培。定期取樣煮根染色，調查產孢情形。結果顯示；三種營養液對紅豆菌根乾重之影響差異不顯著，但對產孢之影響，以0.5強度霍氏營養液含1/4 P (1/2(H1/4 P))顯著優於其他二者($p<0.01$)。三種菌根菌*Glomus mosseae* (Gm)，*G. etunicutum* (Ge)，*G.fasciculatum* (Gf)。氣霧耕栽培八週後Gf、Ge產孢量顯著高於Gm ($p< 0.001$)而五週、七週及九週不同之感染期對產孢量影響不顯著(圖一)。

四、 第二期氣霧耕：

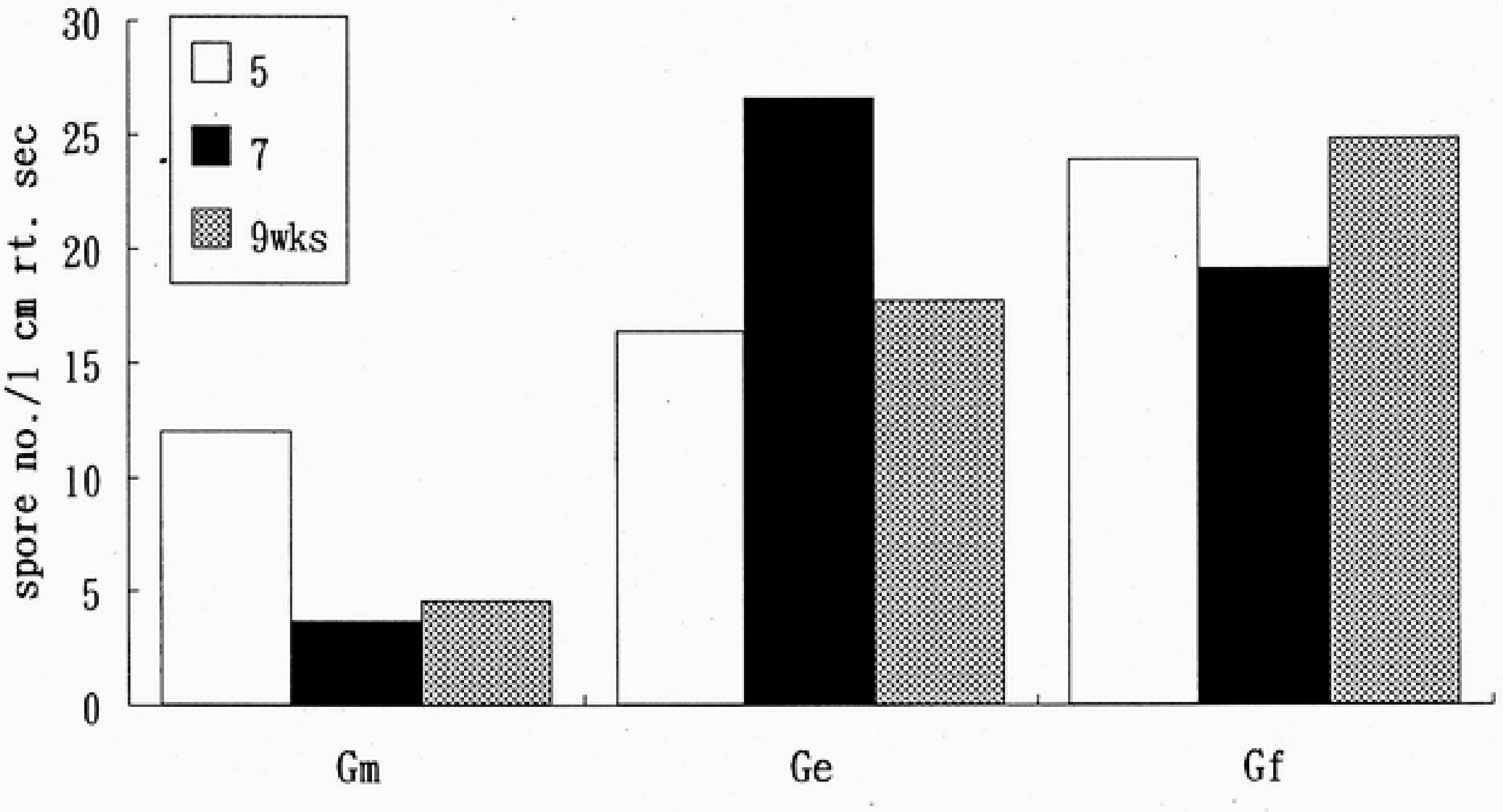
以蕃茄、玉米、百喜草爲寄主作物，亦於盆缽內播種之同時接種*Glomus mosseae, G. etunicatum, G. fasciculatum*與*G. clarum*四種菌之混合孢子土，感染後以氣霧耕栽培，結果顯示玉米植株生長至後期，植株高大不易固定，故後續試驗捨之。而百喜草每公分根段

表一、紅豆接種 *Glomus mosseae* 利用不同養液作氣霧耕栽培，菌根乾重及產生孢子之情形

營　養　液	孢子數 spore/1cm rt.	根乾重 rt.d.wt/plant
1/2(H 1/4p)*	8.69	1.12
1/2(H 1P)**	3.93	0.99
台肥液(200X)	0.43	0.87

* 1/2(H 1/4P)：0.5強度霍格蘭氏營養液含1/4磷

** 1/2(H 1P)：0.5強度霍格蘭氏營養液含全磷



圖一、紅豆接種不同種菌根菌經五、七、九週後，行氣霧耕栽培，八週後，新長出菌根上孢子產生情形。

產孢量高於蕃茄，惟蕃茄菌根之生物量大於百喜草者，且蕃茄果實具經濟價值，值得繼續探討。爲避免盆缽法接種菌根菌時，介質中之雜菌污染菌根。故進一步改進育苗及接種菌根菌之方法，並比較不同作物之感染率。由於水耕業者係將種子播種於海棉塊之十字切口內，本試驗乃將蕃茄與百喜草種子播種於小塑膠方盆內之海綿塊內育苗。另以濕篩法及蔗糖梯度法分離孢子，經氯氨T 2% (chloroamine T)加硫酸鏈黴素(sulfate streptomycin)200 ppm及界面活性劑(Tween 20，0.05%)，將孢子表面消毒20 min，以滅菌水沖洗三次，作成孢子懸浮液加注於海棉塊底部，待種子發芽長出根系，將會被菌根菌

感染。四週後，檢測菌根感染率均極低，由5-30%不等，且海綿塊下不同幼苗之根系會交互纏繞，需小心將之分離方可移植作氣霧耕。後期檢測其感染率及產孢量，兩者均極低，可能於育苗期接種菌根菌時，根系於海棉塊下浸水之環境中，菌根菌感染率即很低，後於氣霧耕栽培時期，植株養分供應充足，菌根菌絲蔓延速度未如根系快速，致感染菌根菌之根系比例降低，此為氣霧耕量產菌根菌之瓶頸，應於氣霧耕栽培之植株根系再度加強感染菌根菌以克服之。

五、 第三期氣霧耕：

取一海棉塊縱向撕開，內置乾菌根碎片，將其包覆於發育良好之氣霧耕植株根系外圍，期能二度加強感染，二星期後檢視其感染情形，被海棉包覆之根系多有腐敗情形發生。將其置於立體解剖顯微鏡下，檢視海棉塊內作為接種源之菌根碎片，其上孢子雖多，但發芽者卻少。尚未腐敗之根系，三個月後於立體解剖顯微鏡下檢視，雖有孢子產生但數目不多，但如能改良以新鮮菌根接種，其生活之菌根菌絲將可為最迅速有效之接種源，且如以新鮮菌根纏繞在尼龍細網上，包覆於根系外圍，應不致如海棉塊般影響根系正常生長與發育，故著手製作接菌網。接菌網製作試驗採用玉米、蕃茄與百喜草三種寄主作物，介質採用南海眞珠石(4號) 及蛭石(4號)二種。取長方形39x28x11 ㎝有孔洞之塑膠籃6個，底層舖白色細目紗網，甚中三個塑膠籃內覆一層厚約3公分之介質，介質上舖一層紗網，網上再覆一層厚約3公分之介質，於介質表面施灑四種菌根菌（*Glomus mosseae*、*G. etunicatum*、*G. fascicul-atum*、*G. clarum*）混合之孢子土，孢子土上再灑 下玉米、蕃茄與百喜草種子，發芽後每二天每籃施灑100 ml含1/4磷肥之Hoagland's營養液，當幼苗根系穿越孢子土層即被菌根菌感染，之後根系發育生長會纏繞在紗網上，於第四、八周，剪下紗網上之菌根，檢測菌根菌感染率、感染強度，每公分根段上囊孢與孢子數，結果顯示（表二），生長於眞珠石中之菌根，其感染率、感染強度、囊孢與孢子產生情形高於生長於蛭石中者，比較三種寄主作物感染菌根情形，又以百喜草為佳，且百喜草生育緩慢，不似玉米與蕃茄發育快速且於開花結果後植株衰敗死亡，死亡根系纏繞之接菌網，其菌根菌之菌絲及孢子活力多已衰敗或休眠，故接菌網以採用百喜草為寄主，眞珠石為介質者較佳。感染率係指所檢測之根中，含有菌根菌根數之百分比。感染強度指所檢測之根中菌根菌佔根面積之平均百分比。之後以海棉塊培育番茄與百喜草幼苗，播種後三至四週移置於Hongland's含1/4磷之營養液氣霧耕培養，，四週後根系已發育茂盛，將接菌網包覆於根系外圍，八週後於接菌網周圍3公分與10公分處，分別取菌根經煮根染色顯微鏡下檢測（表三）百喜草之菌根菌感染率、感染強度、囊孢與孢子數均高於蕃茄，但菌根之鮮重卻只有蕃茄之一半，可能百喜草之植株發育較慢，其菌根菌群落（population）不致如蕃茄者般在生長快速的根上被稀釋。由蕃茄生產之菌根孢子密度雖不如百喜草，但其菌根生物量與果實之商品價值均高於百喜草，較適合推廣應用，期望未來養液栽培業者既可出售蕃茄果實，亦可出售菌根接種源。雖然目前蕃茄氣霧耕菌根孢子密度不如百喜草者，但如以接菌網行多段與多次加強接種，將可有效提高其孢子密度與接種源品質。

表二、以不同介質與寄主作物製作接菌網，其受菌根菌感染及產孢情形

寄主種類	感染率%		感染強度%		囊孢數 1cm根段		孢子數 1cm根段		
週次	4	8	4	8	4	8	4	8	(wk)
玉米									
蛭石	63	96	9	28	0	12	0	5	
眞珠石	66	98	19	44	0	13	0	16	
蕃茄									
蛭石	81	82	25	18	0	4	0	1	
眞珠石	82	84	31	28	0	3	0	3	
百喜草									
蛭石	54	94	14	23	0	7	0	2	
眞珠石	84	96	32	40	0.2	12	0	21	

* 感染率＝被感染根數／檢測根總數×100%

** 感染強度＝菌根菌佔根面積比例之平均值×100%

表三、以接菌網接種氣霧耕培養之蕃茄與百喜草根部，八週後菌感染及產孢情形

寄主種類	感染率%	感染強度%	囊孢數 1cm根段	孢子數 1cm根段
蕃茄				
接菌點周圍				
3cm	58	34.1	2.10	7.3
10cm	38	12.6	0.01	0.1
百喜草				
接菌點周圍				
3cm	65	36.2	14.70	30.0
10cm	46	24.5	11.90	12.8

結　語

菌根於通氣良好之氣霧耕環境下，菌根菌之感染率（infection rate）、感染強度（infection intensity）與孢子密度均不亞於傳統土耕方式，而且其根系裸露於氣霧槽中，可以隨時以接菌網行多段多次之加強感染，由於接菌網上含有活的菌根菌絲、孢子等，感染之有效性大幅提高，只要選對寄主與營養液，必能生產潔淨、輕便與高密度之接種源。此種高品質之接種源極適合應用於種子被覆（coating）及小穴盤育苗接種；此種氣霧耕生產之接種源，未來之需求空間很大。目前亟須加強研究的方向爲1.開發寄主種類；例如：草莓、小黃瓜、青椒、萵苣等，除了寄主根系可作爲菌根接種源出售外，以其枝系產物亦可出售者爲佳，如此生產利潤提高，農民之種植意願提昇，接種源之生產成本方可降低，菌根之推廣應用亦指日可待。2.營養液之選擇：目前以含磷量較少之Hoagland's 營養液爲佳，但不同之作物種類對營養之需求亦有所不同，目前亦在試驗市售且使用方便的營養液，如台肥液、 plant prod 等，期針對不同之寄主作物選出既適合作物生育，又有利於菌根產孢之營養液。 3.有效接種方式之再研究；以接菌網包覆於氣霧耕植株根系外圍，雖可行多段多次之加強感染，然接菌網其接種潛勢之優劣，仍爲關鍵所在；故如何維持及提高接菌網上菌根菌絲及孢子之活力與密度，仍應加強研究。就量產策略而言，本省蕃茄等經濟作物之栽培如能引用本研究所發展之方法，育苗期不予接菌，移植後，利用接菌網多次加強接菌，可大幅增加產孢量提升接種源品質，業者之操作技術層面亦較簡便，適合大規模推廣應用。

參考文獻

1. 王均琍 1989 內生菌根對紅豆生及產量之影響。中華農學會報 148:67-80。

2. 王均琍 1992 紅豆內生菌根生理之研究。中興大學植物研究所博士論文。

3. 王銀波、趙震慶 1991 囊叢枝菌根與重金屬對土耕大豆吸收磷與重金屬之影響。中華農學會報 157:6-18。

4. 張喜寧 1992 台灣園藝囊叢枝菌根之研究與展望。科學農業 40(1-2):45-52。

5. 杜金池、程永雄 1990 接種內生菌根菌開發洋香瓜宿根栽培獲得成功。豐年 40(14):22-25。

6. 陳昇明、廖松淵 1978 盤固草之營養條件與其矮化生長和矮化病之關係。中華農學會報 125:72-82。

7. 莊祿崇 1989 植物內生菌根繡球菌(*Glomus* spp.)的特性及其對玉米生長影響之研究。中興大學植物研究所碩士論文。台中。台灣。

8. 曾顯雄 1985 菌根菌之最近研究發展。眞菌之最近發展。國科會專刊 12:45-70。

9. 楊秋忠、莊作權、郭鴻裕 1984 接種內生菌根對大豆生長、生產、固氮作用及礦物磷利用之效應。中華農學會報 128:29-42。

10. Allen, M. F., W. K. Smith, T. S. Moore, Jr., and M. Christensen. 1981. Comparative water relations and photosynthesis of mycorrhizal and non-mycorrhizal *Bouteloua gracilis*. H. B. K. lag ex steud. New Phytol. 88:683-693.

11. Auge, R. M., and ANN J. W. Stodola. 1990. An apparent increase in symplastic water contributes to greater turgor in mycorrhizal roots of droughted rosa plants. New Phytol. 115:285-295.

12. Hayman, D. S. 1980. Mycorrhiza and crop production.Nature 287:487-490.

13. Hung,L. L., and D. M.Sylvia. 1988. Production of vesicular arbuscular mycorrhizal fungus inoculum in aeroponic culture. Appl. and Environ. Microbiol. 54(2):353-357.

14. Hung L.L., D.M. O'keefe and D.M. Sylvia. 1991. Use of hygrogel as a stickihg agent cauuier for vesicular mycorrhizal fung. Mycol. Res. 95(4):427-429.

15. Sylvia, D. M., and D. H. Hubbell. 1986. Growth and sporulation of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi in aeroponic and membrane systems. Symbiosis 1:259-267.

16. Thompson, J. P. 1986. Soilless culture of vesicular- arbuscular mycorrhizae of cereals: effects of nutrient concentration and nitrogen source. Can. J. Bot. 64:2282-2294.

17. Zobel R. W., P. D. Tredici, and J. G. Torrey. 1976. Method for growing plants aeroponically. Plant Physiol. 57:344-346.

Mass Production of Mycorrhizal Fungus Inoculum by Domestic Aeroponic Culture

Chun-Li Wang

Department of Plant Industry, National Pingtung Polytechnic Institute. Pingtung, Taiwan R.O.C.

Abstract

Aeroponic culture by operating with domestic equipment was utilized to produce mycorrhizal fungus inoculum. In the first stage, adzuki bean seeded in pot was adopted as a host plant inoculatcd with *Glomus mosseae* (GM), After being precolonized, the seedlings of adzuki bean were transplanted in aeroponic culture. The results showed that among the three nutrient solutions used in this study, spore production of mycorrhizal fungus cultivated in 0.5 strength Hoagland's solution containing 1/4 amount of phosphate was better than that in 0.5 strength Hoagland's and Taifei nutrient solution (200X). Among the three mycorrhizal fungi used, spore productions of *Glomus etunicatum* (26 spores / l cm root section) and *G. fasclculalum* (24 spores) were more abundant than that of *G. mosseae* (12 spores).

In the second stage, tomato, corn and behia grass were used as host plants. The mixture of soil inoculnm of *Glomus mosseae,G. etunicatum,G. fasciculatum* and *G. clarum* were inoculated on host plants seedling in pots. After being precolonized by mycorrhizal fungi, seedlings were transplanted in aeroponie culture. The results showed the shoots of corn were too high to be handled with aeroponic culture, and was abandoned in later experiment. Although the spore production per l cm colonized root of bahia grass was more abundant than that in tomato. the biomass of colonized tomato roots was higher than that of bahia grass, and tomato has higher economic value. it is worthy to that tomato as a host crop to produce mycorrhizal fungus inoculum in further study.

In the third stage, tomato and bahia grass were used as host plants, seeded in spongy lump. After germination, seedlings were transplanted in aeroponic culture. The roots were packaged with a piece of sponge containig mycorrhizae fragments for inoculation. However, the roots near sponge were decaying gradually. Fine net containing mycorrhizae fragment (inoculation net) was adopted to wrap host roots cultivated in aeroponic culture to obtain inoculation, The results showed the development of host root is unaffected, and the infection strenght of mycorrhizal fungi, the production of vesicle and spore were improved. 8 weeks after inoculation, the spore number per 1 cm colonized root of bahia grase is 30, that of tomato is 7.3.

For mass production strategy in Taiwan, economic crop such as tomato, could highly improve its sporulation when seedlings were inoculated with mycorrhizal inoculation net after aeroponie culture. The inoculation technique developed in this study is convenient for producer, and therefor suitable for large application and extention.

Key words: Aeroponic culture, Mycorrhizal fungus, Mass production